

Hematopoetik Kök Hücre Nakillerinde HLA Doku Tiplemesinin Önemi

Ayşe Erol^{1}*
Ayhan Bilir¹

Özet

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), malign ve malign olmayan hematolojik hastalıklarda iyileştirici bir tedavi seçeneğidir. Alıcı-verici arasındaki HLA uyumu, cinsiyet uyumu nakil sonrası hasta ve greft sağkalımını etkileyen önemli parametreler arasındadır. Nakiller çoğunlukla kardeş vericilerle sınırlı olmasına rağmen, günümüzde HLA uyumlu akraba dışı vericilerden yapılan nakiller son yıllarda giderek artmıştır. HLA tipleme, alıcı-verici HLA-A, -B ve -DR için fenotipik uyumunu saptayabilen serolojik ve hücrel yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. DNA temelli tiplemenin sağladığı artan çözme gücü, akraba içi uyumlu verici yokluğunda veya akraba dışı vericilerin tiplemesinde, daha iyi uyumlu vericilerin tanımlanmasına olanak tanımaktadır. Yüksek çözünürlüklü DNA temelli HLA tipleme yöntemlerinin geliştirilmesi, HLA uyumlu akraba dışı vericilerin tanımlanmasını ve buna bağlı olarak nakil başarı şansını önemli derecede arttırmıştır.

Anahtar Kelimeler: *hematopoetik kök hücre nakli, MHC kompleksi, HLA, HLA tipleme*

¹ *Istanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı.*
**Sorumlu yazar: ayseerol@aydin.edu.tr*

The Importance of HLA Typing in Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Abstract

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a curative treatment option in malignant and non-malignant hematological diseases. Compatibility of HLA and gender between the patients and their donors are a prerequisite for the success of HSCT, due to its significant effect on the patient and graft survival after transplantation. Although HSCT has previously been limited to patients with an HLA identical sibling, HSCT from HLA matched unrelated donors have been increasingly available. HLA typing is performed by serologic and cellular methods, which allows phenotypic matching of donor-recipient for HLA-A, HLA-B, HLA-DR. The increased resolving power afforded by DNA-based typing has thus enabled the identification of better-matched donors even, in the absence of informative family study or in the typing of unrelated donors. The role of HLA matching has recently become more apparent with the advent of high resolution analysis of HLA incompatibility. The development of accurate and reproducible high resolution DNA-based HLA typing methods have significantly improved the prospects goal of identifying well-matched unrelated donors and transplantation success for thus leading to a successful transplantation result/outcome.

Keywords: *Hematopoietic Stem Cell Transplantation, MHC Complex, HLA, HLA typing*

Giriş

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), akut ve kronik lösemi, şiddetli aplastik anemi ve ilerleyici miyelodisplastik sendromu dahil hayatı tehdit eden hematolojik hastalıkların iyileştirici bir tedavi seçeneğidir. Kök hücre kaynağı olarak periferik kan ve kemik iliği kök hücreleri sıklıkla bu hastaların tedavisinde kullanılmakla birlikte günümüzde kordon kanı da HKHN’de yaygın olarak kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Hematopoetik kök hücre nakillerinde Temel Doku Uygunluğu Bileşeni (Major histocompatibility complex, MHC), ve alıcı-verici arasındaki cinsiyet uyumu, nakil sonrası sağkalımı belirleyen ve hastalığın prognozunu etkileyen önemli belirleyicilerdir^(1,2).

Üç tip kök hücre nakli vardır:

1. Toplanan kök hücreler bir başkası için kullanılabilir (allojenik nakil; akraba içi, akraba dışı).
2. Hastanın sağlıklı döneminde elde edilip saklanan kök hücreler ileride kendisi için kullanılabilir (otolog nakil).
3. Bir hastaya kendi ikiz kardeşi (tek yumurta ikizi) kök hücre verebilir (sinjenik nakil).

Hematolojik malignitelerin tedavisi için akraba dışı hematopoetik kök hücre naklinin (HKHN) başarı oranı, alıcı-verici arasındaki tam uyumlu eşleştirilmeyle paraleldir⁽³⁾. Alıcı-verici arasındaki HLA uyumu nakil başarısını etkileyen önemli parametrelerden biridir. HKHN, ağırlıklı olarak kardeşten yapılmasına rağmen, günümüzde HLA uyumlu akraba dışı vericilerden yapılan nakiller, son 10 yıl içinde giderek artmıştır^(2,4).

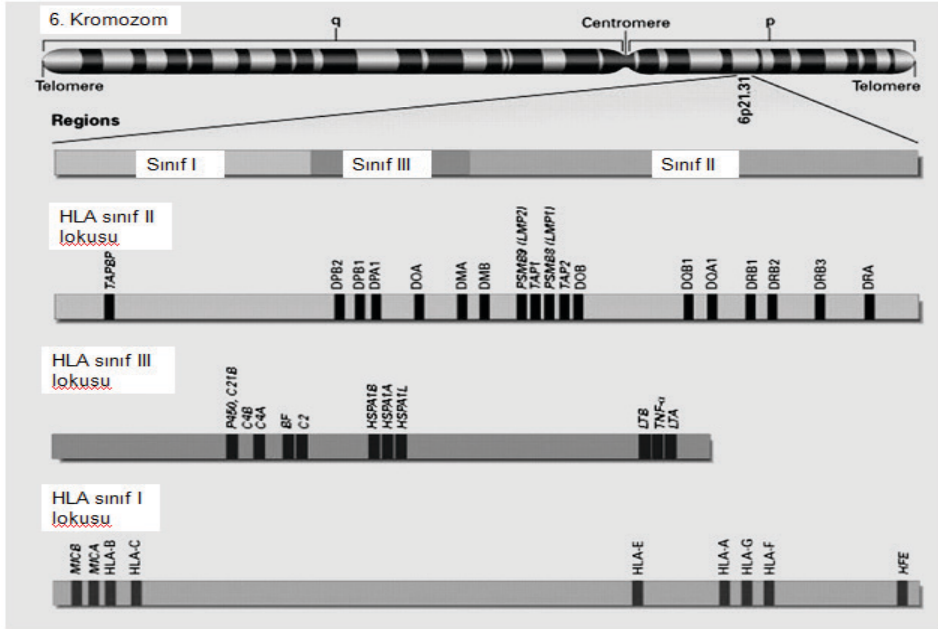
HKHN'deki ilerleme, MHC sisteminin genleri ve fonksiyonu hakkındaki artan bilgimiz oranında büyük ölçüde kolaylaştırılmıştır⁽²⁾. Nakillerde MHC uyumunun önemi ilk olarak deneysel hayvan modellerinde gösterilmiş ve klinik olarak ilk başarılı insan allojenik kök hücre nakli 1968'de uygulanmıştır⁽⁵⁾.

İmmün sisteminin kendinden olanı ve olmayanı tanıması için gerekli olan doku antijenlerini kodlayan gen bölgesi, MHC olarak adlandırılır. İlk olarak lökositlerde gösterilen bu genler, insan lökosit antijenleri (HLA) bölgesi olarak da adlandırılır. Hücre yüzeyinde bulunan MHC molekülleri yabancı antijenleri bağlayarak immün sistemin efektör hücrelerine sunar ve bu şekilde immün yanıtın başlamasında anahtar rol oynarlar⁽⁶⁾.

MHC antijenlerinin üzerlerinde yerleştikleri hücre tipleri ile immün işlevleri açısından 3 farklı grupta oldukları anlaşılmış olup, bunlara sınıf I, II ve III MHC antijenleri adı verilmiştir. Sınıf I ve II antijenleri hücre membranı üzerine yerleşmiş transmembran proteinlerdir. Ancak bu iki sınıf MHC antijenleri farklı genlerde kodlanırlar, farklı moleküler yapıya sahiptirler ve işlevleri de birbirine benzemez. Sınıf III antijenler HLA gen bölgesinde ifade edilen antijenler olup bazı kompleman komponentlerini, inflamasyon moleküllerini içerirler^(6,7).

İnsanda MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bir bölgeye yerleşmiş ardışık bir DNA alanıdır

(6p21.3) (Şekil 1). Bu genlerin ürünleri çok çeşitli hücre tiplerinde ifade edilir ve immün yanıtta önemli bir rol oynar. Bunlar aynı zamanda transplantasyon reddinden sorumlu olan antijenlerdir. MHC molekülleri doğal ve edinsel immün sistemlerinde rol oynar. Bununla birlikte, elde edilen yanıt içerisinde antijen sunumunda rol oynar ve hücre yüzey proteinlerine bağlı olan işlenmiş antijene bağlanırlar. Tüm T hücreleri yanıtları için bir MHC ile bağlanması gerekmektedir. MHC moleküllerinin sınıfı I ve sınıf II olmak üzere iki sınıfı vardır. Sınıf I MHC molekülü endojen kaynaklı peptidleri işleyerek sitotoksik T hücrelerine (CD8 +), sınıf II MHC molekülleri ekzojen kaynaklı peptidleri işleyerek yardımcı T hücrelerine (CD4+) sunar^(8,9). Sınıf I molekülleri (HLA-A,-B ve -C) ve sınıf II molekülleri (HLA-DP, -DQ ve -DR) içerir. Ayrıca sınıf I genlerinden (E, F, G, H ve J bölgeleri) sınırlı polimorfizme sahip olduğu için transplantasyon öncesi doku tiplemesinde kullanılmamaktadır⁽⁹⁾.



Şekil 1: HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerindeki yerleşimi ve Sınıf I, II, III Bölgeleri.

*Şekil, “Uzm. Dr. Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK. Büyük Doku Uyuşum Kompleksi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, ADANA ARŞİV 2011; 20: 159.” yayınından alınmıştır.

Tanı, hastalık evresi, yaş, hazırlık rejimi, GVHD (Graft versus Host Disease) profilaksisi gibi faktörlerin yanı sıra HLA uyumluluğu, klinik sonuçları etkileyen anahtar parametrelerden biridir^(10,11,12). Kardeş donörlerden yapılan HKHN'ye kıyasla, akraba dışından yapılan HKHN'de, HLA uyumsuzluklarına bağlı olarak nakil sonrası komplikasyon sıklığına daha çok rastlanmaktadır⁽¹¹⁾.

1975 yılıyla birlikte, HLA tiplleme, alıcı-verici HLA-A, -B ve -DR için fenotipik uyumunu saptayabilen serolojik ve hücresel yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Alıcı ile hematopoietik kök hücre vericisi arasında yüksek çözünürlük HLA-A, -B, -C, -DRB1 ve -DQB1 eşleşmesi, en iyi netice verirken; düşük çözünürlük HLA tiplleme akraba dışı verici seçimi için yeterli bilgi sağlamamaktadır. DNA temelli yöntemlerin oluşturulması da dahil olmak üzere son 20 yılda HLA tiplleme teknolojisinin devam eden gelişimi HLA özgüllüğünün allel düzeyinde tanımlanabileceği noktaya kadar doğruluk ve güvenilirliği büyük ölçüde geliştirmiştir.

DNA temelli tipllemenin sağladığı artan çözme gücü, bilgilendirici akraba içi uyumlu verici yokluğunda veya akraba dışı vericilerin tiplmesinde, örneğin haplotiplerin tanımlanması mümkün olmadığı zamanlarda daha iyi uyumlu vericilerin tanımlanmasına olanak tanımaktadır^(2,13,14). Alıcı ve verici arasındaki HLA-A, -B, -C, -DRB1 ve -DQB1 antijen ve alellerin uyumu, bütün dünyada altın standart olarak kabul edilir ve bu durum tam ya da 10/10 eşleşme (her antijenin anne ve babadan bir çift olarak geldiği düşünülürse, $2 \times 5 = 10$ antijen/allele eşleşmesi) olarak tanımlanır.

DNA dizi varyasyonuna dayalı HLA polimorfizminin analizi, serolojik veya hücresel tiplleme yöntemlerine göre daha avantajlı olduğu gösterilmiştir. Özgün olmaları, yeni HLA alelleri tanımlandıkça yeni primerlerin geliştirilebilmesi böylece HLA genindeki çeşitliliğin daha doğru bir şekilde saptanabilmesi, daha duyarlı ve özgün olması, çalışmalarda canlı hücre yerine DNA kullanılması, otomasyona uygun olması, aynı zamanda çok sayıda örneğin tiplemesinin yapılabilmesi, serolojik olarak tanımlanamayan alellerin tanımlanabilmesi, DNA temelli yöntemlerin avantajları arasında sayılabilir. DNA yöntemleri çok daha çeşitli örneklerin tiplmesinde kullanılabilir, çünkü serolojik tiplmede olduğu gibi hücrelerin canlılığı veya ilgili HLA antijeninin hücre yüzeyi üzerinde ekspresyonu gerekli

değildir. HLA lokusundaki allelik çeşitliliğin tanımlanması, basit ve hızlı DNA temelli tipleme yöntemlerinin geliştirilmesi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yönteminin geliştirilmesi ile birlikte kolaylaşmıştır^(14,15).

Serolojik ve DNA temelli yöntemlerin karşılaştırılması için yapılan çalışmalarda, serolojik yöntemin daha yetersiz kaldığı ve farklı oranlarda hatalı sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Tan ve ark.'nın Çin popülasyonuyla yaptığı çalışma grubunda, HLA-A ve -B için %9 ve %12,2 uyumsuzluk oranı bildirmişlerdir (16,17). Hematolojik hastalık tanısı konmuş hastaların %30,6'sında serolojik yöntem ile sonuç alınamamış ve DNA temelli yöntem ile tiplemeleri yapılabilmektedir. Sonuç alınamamış HLA grupları incelendiğinde, tespitinin daha zor, anti-HLA antikoru elde edilmesi güç ve birbirleriyle çapraz reaksiyon verebilen antijenlerden oluştuğu görülmüştür (16,18).

Hematopoetik kök hücre nakillerinin başarısı, HLA uyumu ve nakil sonrası greftin konaktaki akıbetinin arasındaki ilişkiyle belirlenebilir. Son zamanlarda yüksek çözünürlüklü doku tipleme yöntemlerinin bulunması sayesinde vericinin ve alıcının HLA allelleri için uyumluluğu, nakil sonucunun önemli bir öngörücüsü olduğu gösterilebilir.

Sonuç olarak, yüksek çözünürlüklü DNA temelli HLA tipleme yöntemlerinin geliştirilmesi, özellikle uyumlu akraba içi vericisi olmayan hastalar için, HLA uyumlu akraba dışı vericilerin tanımlanmasını ve buna bağlı olarak nakil başarı şansını önemli derecede arttırmıştır.

KAYNAKÇA

- [1] Dr. Fatma Savran Oğuz, Dr. Meral Beksaç. Kordon Kanı Nakilleri Ve İnsan Lökosit Antijen Uyumu. Türk Hematoloji Derneği, 2016;6.1;82-88.
- [2] Eric M. Mickelson, Effie Petersdorf, Claudio Anasetti, Paul Martin, Ann Woolfrey, and John A. Hansen. HLA Matching in Hematopoietic Cell Transplantation. Human Immunology 61, 92–100 (2000).
- [3] Petersdorf EW, Anasetti C, Martin PJ, Hansen JA. Tissue typing in support of unrelated hematopoietic cell transplantation. Tissue Antigens. 2003 Jan;61(1):1-11.

- [4] Hansen JA, Petersdorf E, Martin PJ, Anasetti C: Hematopoietic stem cell transplants from unrelated donors. *Immunol Rev* 157:141, 1997.
- [5] Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, Hong R, Good RA: Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 2:1366, 1968.
- [6] Roitt IM, Delves PJ. Membrane Receptors For Antigen. Roitt's Essential Immunology. Blackwell Science. Tenth Edition; 2001. Chapter 4. 62–79.
- [7] Choo SY. The HLA system: Genetics, immunology, Clinical testing and Clinical Implications. *Yonsei Med. Journal*. 2007;48:11-23.
- [8] Nossal GJ: Negative selection of lymphocytes. *Cell* 76(2):229–239, 1994.
- [9] Campbell RD, Trowsdale J: Map of the human MHC. *ImmunolToday*14:349–352, 1993.
- [10] Jean-Marie Tiercy, Jean Villard, Eddy Roosnek. Selection of unrelated bone marrow donors by serology, molecular typing and cellular assays. *Transplant Immunology* 10 (2002) 215–221.
- [11] Hansen JA, Petersdorf E, Martin PJ, Anasetti C. Hematopoietic stem cell transplants from unrelated donors. *Immunol Rev* 1997;157:141–151.
- [12] Madrigal JA, Scott I, Arguello R, Szydlo R, Little A-M, Goldman JM. Factors influencing the outcome of bone marrow transplants using unrelated donors. *Immunol Rev* 1997;157:153 –166.
- [13] Ng J, Hurley CK, Carter C, Baxter-Lowe LA, Bing D, Chopek M, Hegland J, Lee TD, Li TC, Hsu S, KuKuruga D, Mason JM, Monos D, Noreen H, Rosner G, Schmeckpeper B, Dupont B, Hartzman RJ: Large-scale DRB and DQB1 oligonucleotide typing for the NMDP registry: progress report from year 2. *Tissue Antigens* 47:21, 1996.
- [14] Smith AG, Nelson JL, Regen L, Guthrie LA, Donadi E, Templin D, Mickelson EM, Hansen JA: Sixnew DR52- associated DRB1 alleles, three of DR8, two of DR11, and one of DR6 reflect a variety of mechanisms which generate polymorphism in the MHC. *Tissue Antigens* 48:118, 1996.
- [15] H. A. Erlich, G. Opelz, and J. Hansen. HLA DNA Typing and

- Transplantation. Immunity, Vol. 14, 347–356, April, 2001.
- [16] Seyhun Y, Kekik , Karahan G, Oguz S.F, arin N.M. HLA-A,B Antijenlerinin Serolojik Yntemle Tespit Edilememesi ve Molekler Yntemlerin Kullanımı. Gaziantep Tıp Dergisi 2008,41-45.
- [17] Tan J, Tang X, Xie T. Comparison of HLA class I typing by serology with DNA typing in a Chinese population. Transplant Proc. 2000;32(7):1859-61.
- [18] Laux G, OpelzG. Immunological relevance of CREG matching in cadaver kidney transplantation. Transplantation.2004;79(3):442-6.